

**Induksi Umbi Mikro Tanaman Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (Lour.) DC)
Secara *In Vitro* dengan Perlakuan Sukrosa dan Daminozide**

***In Vitro* Microtuber Induction of *Gynura pseudochina* (Lour.) DC
with Sucrose and Daminozide Supplements**

Donny Hartanto¹, Sandra Arifin Aziz^{1*}, dan Diny Dinarti¹

¹Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
(Bogor Agricultural University), Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Diterima 13 April 2010/Disetujui 15 Juli 2010

ABSTRACT

The effects of sucrose and daminozide on in-vitro microtuber formation were evaluated for producing microtubers to supply year round microtubers and to facilitate sterilized explants exchange regionally and internationally. Uninodal stem segment explants were cultured on agar solidified Murashige and Skoog medium supplemented with 3% sucrose, 0.5 mg L⁻¹ 6-benzylaminopurine (BAP), 0.1 mg L⁻¹ α -naphthaleneacetic acid (NAA) for bud multiplication for 3 months. Three nodal stem segment which already formed three perfect leaves were cultured on agar solidified MS medium, 3% sucrose and 1 mg L⁻¹ NAA for two weeks to induce root formation (until \pm minimum 60% of the explants rooted). The next step was the induction of three nodal stem segments for microtuber formation on agar solidified MS medium supplemented with 5 mg L⁻¹ BAP and two levels of sucrose, four concentrations of daminozide for 10 weeks. Sucrose at 6% resulted in the significantly highest number of microtuber. The daminozide 41.29 mg L⁻¹ stimulated tuberization at base of the stems and reduce number of microtuber formation in stolon.

Keywords: daminozide, *Gynura pseudochina* (L.) DC, in vitro, microtuber, sucrose

PENDAHULUAN

Tanaman daun dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC) merupakan salah satu tanaman yang digunakan masyarakat untuk pengobatan kanker (Aristiani, 2006). Tanaman daun dewa mengandung banyak vitamin K yang berfungsi dalam proses pembekuan darah dan meregenerasikan sel-sel darah (Santosa, 2003). Pemberian sari daun dewa dengan heksan dapat memberikan efek menghambat pertumbuhan kanker pada binatang percobaan (Mursito, 2002).

Penelitian pada tanaman daun dewa untuk induksi pembentukan akar dan umbi menggunakan daminozide dengan konsentrasi 0.5 dan 5 mg L⁻¹ yang dikombinasikan dengan penambahan sukrosa pada konsentrasi 4.5 dan 6% secara *in vitro* telah dilakukan oleh Anggirasti (2002). Penelitian tersebut tidak menghasilkan umbi mikro, karena terjadi kontaminasi pada planlet yang dikulturkan. Media terbaik untuk pembentukan akar pada pengumbian eksplan daun dewa adalah media MS + IAA 0.5 mg L⁻¹. Kegunaan perbanyakan *in vitro* menurut Nayak dan Naik (2006) adalah umbi mikro akan terbentuk sepanjang tahun tanpa dipengaruhi musim dan bisa disimpan secara *in vitro* dengan melakukan subkultur atau *ex vitro* di dalam *net house* pada suhu ruang. Melalui teknik *in vitro*, pertukaran

plasma nutfah secara regional, nasional dan internasional dapat difasilitasi dengan cepat, sepanjang tahun dan bebas patogen. Selain itu Ahmed *et al.* (2007) menyatakan bahwa perbanyakan *in vitro* akan menyelesaikan banyak masalah yang ditimbulkan jika perbanyakan dilakukan secara alami.

Sukrosa dapat mengatur pengumbian dengan cara mempengaruhi kadar gibberellic acid (GA) dari perkembangan stolon dan umbi. Sukrosa 8% menghasilkan stolon yang membentuk umbi mikro pada kentang. Sukrosa 8% + GA menghasilkan stolon tapi tidak membentuk umbi mikro sampai hari ke-10 pengkulturan. Kadar GA endogenous tinggi selama proses pemanjangan stolon, dan menurun kadarnya saat pembentukan umbi pada ujung stolon yang dimulai di bawah kondisi penginduksian umbi (sukrosa konsentrasi tinggi 8%). Kadar GA akan tetap tinggi di bawah kondisi yang tidak menginduksi pengumbian (sukrosa konsentrasi rendah atau sukrosa konsentrasi tinggi 8% + GA) (Xu *et al.*, 1998).

Inisiasi pengumbian mikro kentang kultivar Desiree dengan penggunaan sukrosa konsentrasi 6% dan rata-rata jumlah, bobot dan ukuran umbi mikro akan meningkat sampai pemberian sukrosa 12%, akan tetapi hasilnya tidak berbeda nyata dengan pemberian sukrosa lebih dari 9%. Hal ini disebabkan pemberian sukrosa yang optimum untuk kultivar Desiree adalah 9% (Mahdi *et al.*, 2004).

Dhital dan Lim (2004) menggunakan daminozide untuk menginduksi umbi mikro kentang. Media MS + 8% sukrosa + 200 mg L⁻¹ daminozide menghasilkan bobot

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: sandraaziz@yahoo.com

umbi mikro terbesar (591 mg planlet⁻¹). Penambahan media MS cair, sukrosa dan daminozide diduga memainkan peran dalam penginduksian dan perkembangan dari pembesaran umbi mikro dari berbagai macam variasi genetik planlet kentang secara *in vitro*. Zaini (2006) melaporkan umbi mikro pada umur 8 bulan diduga telah mengandung zat-zat flavonoid yang telah terbentuk dengan sempurna.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh sukrosa dan daminozide terhadap pertumbuhan dan perkembangan serta pembentukan umbi mikro planlet daun dawa secara *in vitro* untuk bahan tanam di lapang.

BAHAN DAN METODE

Penelitian untuk menginduksi pembentukan umbi mikro tanaman daun dawa (*Gynura pseudochina* (L.) DC) telah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, dan Laboratorium Ekofisiologi Tanaman. Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2007 sampai dengan Mei 2008.

Bahan tanaman yang dipergunakan sebagai sumber eksplan adalah planlet steril tanaman daun dawa. Bahan yang dipergunakan dalam pembuatan media adalah larutan stok MS, agar-agar, aquades, sukrosa, NAA, BAP, dan daminozide. Alat-alat yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah plastik, lampu TL 40 Watt, karet gelang, tisu, *hand sprayer*, label, spidol, cawan petri, botol kultur, tabung reaksi, *laminar air flow cabinet*, alat *autoclave*, silet, pinset, *scalpel*, dan mata pisau.

Metode rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial dengan dua faktor yaitu konsentrasi sukrosa (6 dan 9%) dan konsentrasi daminozide (0, 10, 50, dan 100 mg L⁻¹). Penelitian ini terdiri dari 8 kombinasi perlakuan masing-masing diulang sebanyak 10 kali, sehingga terdapat 80 satuan percobaan dengan satu eksplan untuk setiap ulangnya (satu botol kultur).

Untuk mengetahui pengaruh faktor tunggal dengan interaksinya dari masing-masing perlakuan yang diujikan maka dilakukan uji F. Jika sidik ragam memberikan pengaruh yang nyata atau sangat nyata, selanjutnya dilakukan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf α 5% untuk menganalisis pengaruh masing-masing kombinasi perlakuan terhadap parameter yang diukur. Pengolahan data menggunakan *Statistical Analysis System* (SAS) versi 9.1. Perlakuan tunggal daminozide yang berbeda nyata atau sangat nyata pada 10 MSP dianalisis menggunakan analisis regresi menggunakan *Microsoft Excel* 2007. Analisis korelasi dilakukan untuk melihat hubungan antara dua peubah dengan menggunakan SAS versi 9.1.

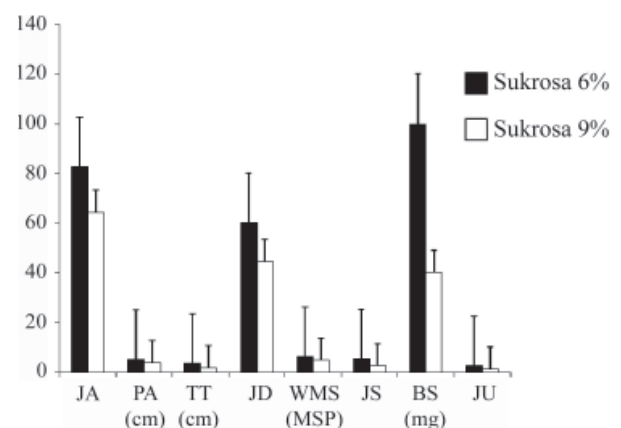
Eksplan steril daun dawa dalam media multiplikasi dengan komposisi MS ditambahkan 0.5 mg L⁻¹ BAP dan 0.1 mg L⁻¹ NAA dengan 3% sukrosa diperbanyak dengan media yang sama dengan menggunakan potongan batang dengan satu buku berdaun per eksplan dan dalam satu botol terdapat tiga eksplan. Planlet dipelihara selama \pm 3 bulan sampai dicapai jumlah buku batang yang cukup.

Planlet steril hasil perbanyakan kemudian dipindahkan ke media perakaran yang terdiri atas media MS, 1 mg L⁻¹ NAA dan 3% sukrosa. Jumlah buku per eksplan adalah 3 buku yang mempunyai 3 daun yang membuka sempurna. Planlet dipelihara selama 2 minggu sampai semua planlet berakar (minimal \pm 60%). Tahapan terakhir adalah pemindahan planlet steril pada media pengumbian yang terdiri atas media MS, 5 mg L⁻¹ BAP, 2 macam konsentrasi sukrosa dan 4 macam konsentrasi daminozide. Planlet pada media pengumbian dipelihara selama 10 minggu sampai umbi terbentuk (batang bagian bawah menggembung). Pemeliharaan dilakukan dengan meletakkan botol kultur di ruang kultur yang bersuhu 16-18 °C dengan kondisi terang 24 jam.

Pengamatan pada percobaan ini dilakukan dengan dua cara, yaitu pengamatan kultur setiap minggu yang diamati dari luar botol, seperti: waktu muncul stolon (minggu setelah perlakuan (MSP)), jumlah akar, jumlah tunas, jumlah daun, jumlah stolon, dan jumlah umbi mikro. Pengamatan yang dilakukan saat kultur berumur 10 MSP meliputi: panjang akar (cm), tinggi tunas (cm), bobot stolon (mg), bobot umbi mikro (mg), dan diameter umbi mikro (cm). Pengamatan dilakukan secara destruktif pada lima botol kultur untuk setiap perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengkulturan planlet selama 10 MSP diduga baik untuk memperoleh bahan tanam (umbi mikro), karena umbi mikro yang dipanen pada 10 MSP dan dibiarkan di dalam plastik selama 2 minggu, dapat membentuk tunas (tidak terdapat gambar). Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan tunggal sukrosa nyata dan sangat nyata mempengaruhi jumlah dan panjang akar, tinggi tunas, jumlah daun, waktu muncul stolon (WMS), jumlah dan bobot stolon, serta jumlah umbi mikro (Gambar 1 dan Tabel 1). Perlakuan tunggal daminozide terbukti memberikan pengaruh terhadap jumlah dan bobot stolon (Gambar 2 dan 3). Interaksi sukrosa dan



Gambar 1. Pengaruh sukrosa terhadap jumlah akar (JA) dan panjang akar (PA), tinggi tunas (TT), jumlah daun (JD), waktu muncul stolon (WMS), jumlah stolon (JS) bobot stolon (BS), dan jumlah umbi (JU) mikro pada 10 MSP

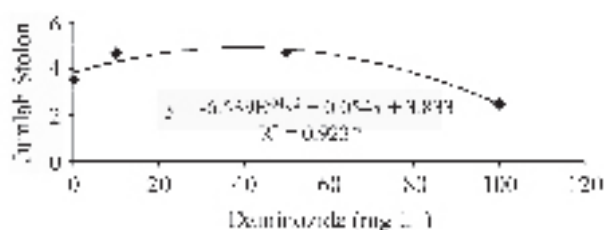
Tabel 1. Pengaruh tunggal pemberian sukrosa dan daminozide terhadap jumlah umbi mikro pada 10 MSP di ujung stolon

Perlakuan	Jumlah umbi mikro
Sukrosa (%)	
6	2.4a(1.6a)
9	1.3b(1.3b)
Daminozide (mg L ⁻¹)	
0	1.5
10	1.7
50	2.6
100	1.8

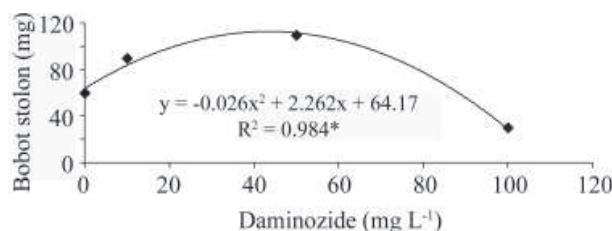
Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada uji lanjut DMRT pada taraf 5%
 Angka yang berada dalam tanda kurung merupakan hasil tranformasi $\sqrt{x+0.5}$

daminozide tidak memberikan pengaruh terhadap peubah yang diamati (data tidak ditunjukkan). Pemberian sukrosa 6% pada media pengumbian mikro menghasilkan jumlah dan panjang akar, tinggi tunas, jumlah daun, jumlah dan bobot stolon, serta jumlah umbi mikro yang lebih besar dan WMS yang lebih lama dibandingkan pemberian sukrosa 9%.

Peningkatan konsentrasi sukrosa dan daminozide, akan meningkatkan kepekatan media. Menurut Marlin (2005) adanya sumber energi (sukrosa) yang tersedia dalam konsentrasi yang tinggi menyebabkan konsentrasi media terlalu pekat. Pada jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) peningkatan tekanan osmotik media menyebabkan



Gambar 2. Regresi pengaruh daminozide terhadap jumlah stolon pada 10 MSP



Gambar 3. Regresi pengaruh daminozide terhadap bobot stolon (mg) pada 10 MSP

eksplan tidak dapat menyerap unsur hara yang ada secara optimal untuk pertumbuhannya. Nirwan dan Aziz (2006) menyatakan peningkatan konsentrasi sukrosa dapat menekan perkembangan planlet daun dewa, dan pemberian 5.098% sukrosa maka akar semakin tidak terbentuk. Pemberian 5.128% sukrosa menyebabkan pemanjangan akar tidak terjadi. Pemberian 4% sukrosa dan 1 mg L⁻¹ IAA menghasilkan jumlah tunas daun dewa yang maksimum (15.6) pada 8 MST. Peningkatan konsentrasi sukrosa lebih dari 3% mengakibatkan tinggi tunas semakin rendah. Pemberian sukrosa lebih dari 3% tanpa IAA menghasilkan daun yang lebih banyak meskipun ukuran daunnya semakin kecil.

Pengaruh daminozide sebagai inhibitor giberelin pada efisiensi embriogenesis somatik dan regenerasi tanaman dari embrio gandum Rusia yang dewasa dan yang belum dewasa telah diamati (Miroshnichenko *et al.*, 2009). Daminozide mempunyai pengaruh sebagai inhibitor pada tahap-tahap akhir biosintesis giberelin menyangkut hidrolase (George *et al.*, 2008). Pemberian daminozide pada media pengumbian mikro bawang merah (*Allium cepa* var. Aggregatum group) tidak mempengaruhi jumlah akar. Peningkatan konsentrasi daminozide dapat menurunkan pembentukan tunas bawang merah (Rahmawati, 2007).

Hasil uji korelasi menunjukkan pertambahan jumlah tunas menurunkan jumlah umbi dan jumlah stolon ($r = -0.477^{**}$ dan -0.439^{**}), penurunan jumlah stolon menurunkan bobot stolon ($r = 0.874^{**}$). Bobot, panjang, lebar dan tinggi umbi mikro meningkat (r berturut-turut 0.449^{**} , 0.567^{**} , 0.440^{**} , dan 0.411^{**}) dengan pertambahan jumlah tunas. Jumlah daun yang bertambah meningkatkan bobot, panjang dan tinggi umbi mikro (r berturut-turut 0.552^{**} , 0.527^{**} , dan 0.381^{*}). Jumlah umbi yang banyak menyebabkan ukuran panjang umbi mengecil ($r = -0.333^{*}$). Jumlah umbi yang banyak, tetapi berukuran kecil dapat dipilih dari kultur dengan jumlah tunas yang sedikit, dengan bobot dan jumlah stolon yang meningkat akibat pemberian sukrosa 6%. Umbi yang berbobot dan berukuran besar (Tabel 2) dapat diperoleh dari kultur yang berjumlah daun banyak.

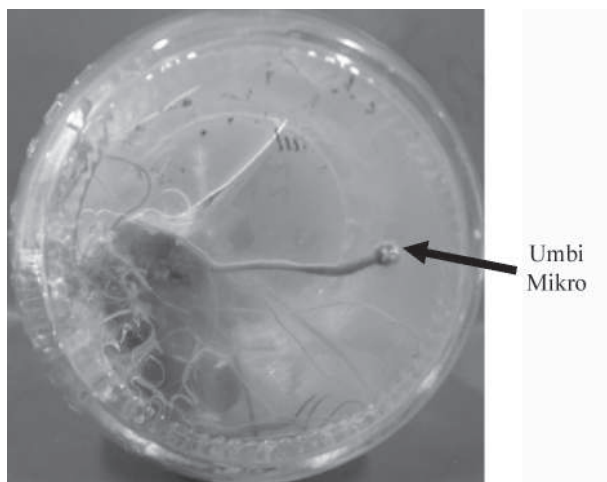
Tabel 2. Pengaruh tunggal pemberian sukrosa dan daminozide terhadap diameter umbi mikro pada 10 MSP

Perlakuan	Diameter umbi mikro (cm)		
	Panjang	Lebar	Tinggi
Sukrosa (%)			
6	1.48	0.81	0.79
9	1.42	0.82	0.72
Daminozide (mg L ⁻¹)			
0	1.44	0.74	0.68
10	1.60	0.97	0.95
50	1.27	0.74	0.70
100	1.49	0.81	0.70

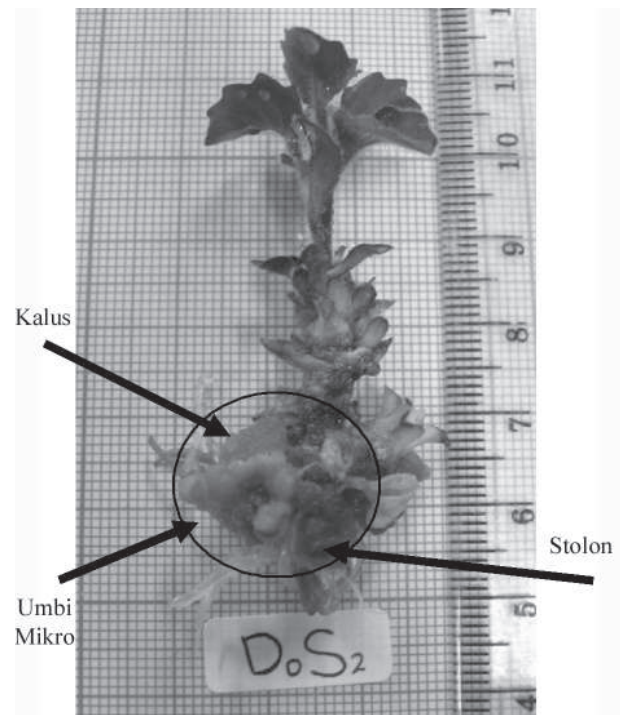
Pembentukan dan pemanjangan stolon bukan merupakan karakter yang diharapkan dalam pengumbian mikro daun dewa, karena pembentukan dan pemanjangan stolon akan menghambat pengumbian mikro pada pangkal batang merupakan karakter yang diharapkan untuk memperbanyak jumlah umbi. Menurut Xu *et al.* (1998) GA merupakan faktor dominan yang meregulasi, merespon kondisi lingkungan dan mengatur semua tahapan pembentukan umbi, seperti menstimulasi pemanjangan stolon dan menghambat penginisiasian dan pertumbuhan umbi.

Melalui persamaan kuadrat $Y = -6.539E^{-04}x^2 + 0.054x + 3.833$ dengan ($R^2 = 0.923^*$), pemberian 41.29 mg L^{-1} daminozide menghasilkan stolon terbanyak yaitu $4.95 \text{ stolon planlet}^{-1}$. Bobot stolon terbesar ($113.37 \text{ mg planlet}^{-1}$) diperoleh pada pemberian 43.50 mg L^{-1} daminozide, yang ditentukan melalui persamaan kuadrat $Y = -0.026x^2 + 2.262x + 64.17$ dengan ($R^2 = 0.984^*$). Pembentukan dan pemanjangan stolon dapat dicegah dengan cara pemberian daminozide lebih dari 41.29 mg L^{-1} . Pemberian 9% sukrosa atau 41.29 mg L^{-1} daminozide menurunkan jumlah stolon. Menurut Xu *et al.* (1998) pemberian sukrosa konsentrasi tinggi dapat menghentikan pembentukan stolon. Menurut Rademacher (2000), daminozide mempunyai struktur yang sama dengan asam 2-oksoglutarat yang dapat menghambat pembentukan giberelin sebagai inhibitor dari 2-oksoglutarat-bergantung dioksigenase. Hal ini juga akan dapat menghentikan pembentukan stolon.

Peningkatan jumlah stolon sangat nyata meningkatkan jumlah umbi mikro daun dewa ($r = 0.448^{**}$). Peningkatan jumlah stolon akan meningkatkan situs-situs pembentukan umbi mikro. Umbi mikro yang terbentuk pada ujung stolon (Gambar 4) disebabkan adanya penghambatan pembentukan umbi mikro pada pangkal batang (Gambar 5). Pemberian 6% sukrosa diduga belum dapat menurunkan kadar GA pada pangkal batang, sehingga planlet akan membentuk umbi mikro pada ujung stolon dan umbinya tidak akan berkembang karena dihambat oleh GA yang ada pada



Gambar 4. Umbi mikro daun dewa yang terbentuk pada ujung stolon umur 10 MSP dengan perlakuan 6% sukrosa dan 50 mg L^{-1} daminozide



Gambar 5. Planlet berumur 10 MSP yang telah membentuk umbi mikro, stolon dan kalus pada media perlakuan 9% sukrosa tanpa daminozide.

ujung stolon. Penghambatan tersebut diduga akan memacu pembentukan umbi mikro pada ujung stolon lainnya. Hal ini mengakibatkan pemberian 6% sukrosa akan menghasilkan stolon yang membentuk umbi mikro pada ujungnya lebih banyak dibandingkan pemberian 9% sukrosa (Tabel 1). Pemberian 41.29 mg L^{-1} daminozide disarankan untuk menghasilkan umbi mikro terbanyak. Hal ini disebabkan oleh pemberian daminozide lebih dari 41.29 mg L^{-1} , akan menurunkan jumlah umbi pada ujung stolon dan meningkatkan pembentukan umbi pada pangkal batang. Pemberian daminozide kurang dari atau sama dengan 41.29 mg L^{-1} meningkatkan jumlah umbi mikro pada ujung stolon, dan menghambat pengumbian pada pangkal batang.

Pemberian 9% sukrosa diduga mengakibatkan tersedianya energi yang sesuai untuk pengumbian pada pangkal batang dan tekanan osmotik yang tinggi menghambat pembentukan umbi. Khuri dan Moorby (1995) melaporkan bahwa tekanan osmotik yang tinggi menghambat pembentukan umbi mikro kentang kultivar Estima, akan tetapi pemberian 8% sukrosa pada media menyebabkan tekanan osmotik yang sesuai untuk perkembangan umbi mikro kentang.

Umbi pada daun dewa dapat terbentuk di pangkal batang atau di ujung-ujung stolon. Umbi yang lebih besar dapat diperoleh dengan penghambatan pembentukan stolon. Untuk mendapatkan umbi yang lebih banyak, pembentukan stolon yang diikuti dengan pembentukan umbi adalah hal yang diinginkan. Pemberian daminozide kurang dari 41.29 mg L^{-1} sepertinya belum efektif dalam menghambat biosintesis giberelin yang kemudian menghambat pembentukan umbi mikro pada pangkal batang. Penghambatan biosintesis

giberelin diduga membutuhkan pemberian daminozide dengan konsentrasi besar. Hal ini dapat dilihat dari banyaknya umbi mikro yang terbentuk pada ujung stolon. Pembentukan umbi pada ujung stolon merupakan salah satu bukti penghambatan pembentukan umbi mikro pada pangkal batang. Penghambatan ini mengakibatkan tanaman menginduksi umbi mikro pada ujung stolon sebagai mekanisme reproduksinya. Umbi mikro pada ujung stolon sangat kecil (Tabel 2) dibandingkan umbi pada pangkal batang. Tidak terbentuknya umbi mikro pada ujung stolon berarti berkurangnya total umbi mikro yang dihasilkan, sehingga peningkatan konsentrasi daminozide lebih dari 41.29 mg L⁻¹ diperkirakan tidak akan meningkatkan jumlah umbi mikro.

Pemberian sukrosa konsentrasi tinggi dan daminozide pada percobaan ini tidak mempengaruhi bobot umbi mikro (Tabel 3). Pembentukan dan perkembangan umbi mikro pada percobaan ini belum sempurna yang ditandai dengan masih terlihatnya berkas pembuluh xylem dan floem pada umbi mikro pangkal batang secara jelas pada pengamatan di bawah mikroskop. Rahmawati (2007) menyatakan pemberian daminozide tidak mempengaruhi diameter umbi lapis mikro bawang merah. Waktu panen umbi mikro pada 10 MSP tidak tepat pada budidaya *in vitro* untuk memperoleh senyawa metabolisme sekunder. Zaini (2006) menyatakan umbi daun dewa dari lapang yang digunakan untuk analisis flavonoid adalah yang berusia 8 bulan (32 MSP) dan pada umur tersebut diharapkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam umbi telah terbentuk dengan sempurna.

Peningkatan diameter umbi mikro dipengaruhi oleh peningkatan jumlah tunas dan bobot umbi mikro. Peningkatan bobot umbi mikro disebabkan adanya peningkatan diameter akibat pembelahan sel pada pangkal batang yang diinduksi oleh sitokinin endogen dan sintetik. Sel yang telah membelah selanjutnya diisi oleh asimilat dengan sukrosa sebagai bahan dasar penyusunnya. Peningkatan panjang umbi mikro dipengaruhi oleh peningkatan jumlah daun, lebar dan tinggi umbi mikro. Peningkatan panjang umbi mikro dipengaruhi oleh penurunan jumlah umbi mikro. Peningkatan tinggi umbi mikro dipengaruhi oleh jumlah daun dan panjang akar.

Tabel 3. Pengaruh tunggal pemberian sukrosa dan daminozide terhadap bobot umbi mikro pada 10 MSP

Perlakuan	Bobot umbi mikro (mg)
Sukrosa (%)	
6	990
9	720
Daminozide (mg L ⁻¹)	
0	700
10	1,320
50	730
100	670

KESIMPULAN

Pemberian 6% sukrosa pada media pengumbian mikro nyata menghasilkan jumlah dan panjang akar, tinggi tunas, jumlah daun, jumlah dan bobot stolon, serta jumlah umbi mikro yang nyata lebih besar dan waktu yang lebih lama dibandingkan pemberian 9% sukrosa. Pemberian daminozide lebih dari 41.29 mg L⁻¹ menyebabkan pembentukan umbi di pangkal batang dan menurunkan jumlah umbi mikro di ujung stolon. Pemberian 41.29 mg L⁻¹ daminozide menghasilkan stolon terbanyak yaitu 4.95 planlet⁻¹. Bobot stolon terbesar yaitu 113.37 mg planlet⁻¹ diperoleh pada pemberian 43.50 mg L⁻¹ daminozide.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada kedua Yayasan Beasiswa BBPM dan YAAB-ORBIT, Bi Acih, Dwi Retno Aryati, Hana Immanuel Purba, Pak Joko (Laboran Ekofisiologi Tanaman), Pak Nirwan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, M.B., S. Ahmed, M. Salahin, R. Sultana, M. Khatun, M.A. Razvy, M.M. Hannan, R. Islam, M.M. Hossain. 2007. Standardization of a suitable protocol for *in vitro* clonal propagation of *Acorus calamus* L. an important medicinal plant in Bangladesh. *American-Eurasian J.Sci.Res.* 2:136-140.
- Anggirasti. 2002. Induksi pembentukan akar dan umbi menggunakan B9 dan sukrosa pada daun dewa (*Gynura pseudochina* (Lour.) DC) secara *in vitro*. Skripsi. Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Aristiani, N. 2006. Efek sitotoksik ekstrak metanol dan kloroform daun dewa (*Gynura pseudochina* (Lour.) DC) terhadap sel hela. Skripsi. Departemen Farmasi UMS, Fakultas MIPA, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- George, E.F., Hall, M.A., De Klerk, G.-J (Eds.) 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture · Volume 1. The Background* (3rd edition). Springer. [www.hos.ufl.edu/mooreweb/TissueCulture/february 5/GA.pdf](http://www.hos.ufl.edu/mooreweb/TissueCulture/february%205/GA.pdf)
- Dhital, S.P., H.T. Lim. 2004. Microtuberization response in several genotypes of potato (*Solanum tuberosum* L.) by direct addition of liquid medium to *in vitro* planlets. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 45:281-286.
- Khuri, S., J. Moorby. 1995. Investigations into the role of sucrose in potato cv. Estima microtuber production *in vitro*. *Ann. Bot. J.* 75:295-303.
- Mahdi, El F.M., H.S. Al-Saad, S.M. A. I. Elshibili. 2004. *In vitro* tuberization of potato cultivars as influenced

- by photoperiod, exogenous sucrose and cytokinin concentrations. Agric. Sci. 17:25-35.
- Marlin. 2005. Pembentukan rimpang mikro jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) secara *in vitro* dengan pemberian benzyl amino purine dan sukrosa. J. Akta Agrosia 8:70-73.
- Miroshnichenko, D., M. Filippov, S. Dolgov. 2009. Effects of daminozide on somatic embryogenesis from immature and mature embryos of wheat. Aust. J. Crop Sci. 3:83-94.
- Mursito, B. 2002. Ramuan Tradisional untuk Gangguan Ginjal. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Nayak, S., P.K. Naik. 2006. Factors affecting *in vitro* microrhizome formation and growth in *Curcuma longa* L. and improved field performance of micropropagated plants. Sci. Asia 32:31-37.
- Nirwan, S.A. Aziz. 2006. Multiplikasi dan pigmentasi antosianin daun dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC) *in vitro*. Bul. Agron. 34:112-118.
- Rademacher, W. 2000. Growth retardants: effects on gibberelin biosynthesis and other metabolic pathways. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol.Biol. 51:501-531.
- Rahmawati, I. 2007. Studi pembentukan umbi lapis mikro dua kultivar bawang merah (*Allium cepa* var. Aggregatum group) secara *in vitro* pada berbagai konsentrasi SADH. Skripsi. Program Studi Hortikultura. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Santosa, D. 2003. Ramuan Tradisional Untuk Penyakit Kulit. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Xu, X., A. A. M. van Lammeren, E. Vermeer, D. Vreugdenhil. 1998. The role of gibberellin, abscisic acid, and sucrose in the regulation of potato tuber formation *in vitro*. Plant Physiol. 117: 575-584.
- Zaini R. 2006. Isolasi komponen bioaktif flavonoid dari tanaman daun dewa (*Gynura pseudochina* (Lour) DC). Tesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.